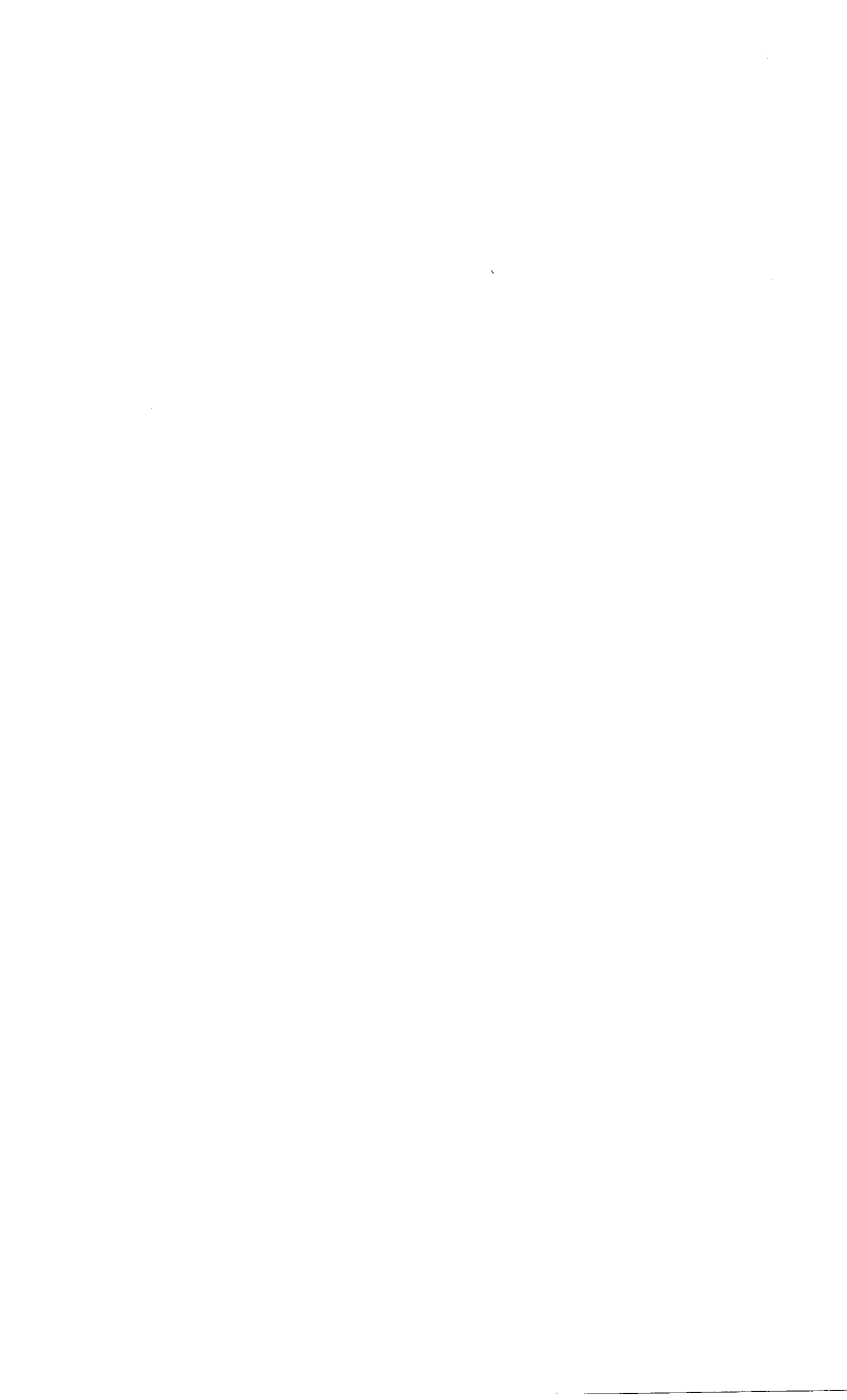




U0130256316  
CLIENTE 748  
DOCADEA 442231

2<sup>o</sup> CUERPO

EXATE. 20525.13.6



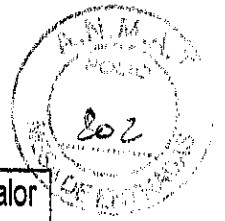
**Tabla 25 Osmolaridad**

<b>Muestras de Prueba</b>	Granel Concentrado
<b>Descripción de la Valoración</b>	Se seleccionan y utilizan dos estándares de calibración para la calibración del instrumento. Se miden cuatro viales del control positivo adecuado y de las muestras de prueba; la primera medición para cada grupo se utiliza para enjuagar la máquina y no se incluye en los cálculos. Los resultados se informan como el promedio de las tres mediciones. El análisis es válido si el control positivo está dentro de $\pm 4$ mOsm/kg del rango de titulación teórico.
<b>Consistencia a Farmacopeas</b>	Ph. Eur. Capítulo 2.2.35 Osmolaridad USP <785> Osmolaridad y Osmolaridad

**Tabla 26 pH**

<b>Descripción de la Valoración</b>	<p><b>Valoración de Sandoz, para liberación de granel concentrado:</b></p> <p>El medidor del pH se calibra con un mínimo de dos tampones estándar de modo tal que la medición de pH cae dentro del rango definido por los estándares. El electrodo se lava antes de la inmersión en cada solución estándar. Luego de la calibración, se lleva a cabo una prueba de control por el uso de tampones de calibración y al menos un tampón adicional. La calibración se considera válida si las lecturas del estándar de control están dentro de un rango de tolerancia de <math>\pm 0,02</math> unidades de pH según lo comparado con el valor certificado para cada estándar. Una lectura simple se toma para cada muestra a temperatura ambiente (23-25°C) para determinar el pH.</p> <p><b>Valoración de Novartis, para estabilidad del granel concentrado:</b></p> <p>El medidor del pH se calibra en tres puntos estándar, por ej., pH 4, pH 7, y pH 10; el electrodo se lava antes de la inmersión en cada solución de tampón estándar. Luego de la calibración, se lleva a cabo una prueba de control por el uso de estándares de pH 9 y pH 6. La calibración se considera válida si las lecturas del estándar de control están dentro de un rango de</p>
-------------------------------------	--





	<p>tolerancia de <math>\pm 0,02</math> según lo comparado con el valor certificado para cada estándar</p> <p>Para cada muestra, se toman tres lecturas de pH, y se calculan la media, la desviación, y el coeficiente porcentual de variación (CV %). Todas las lecturas de pH se toman en un rango de temperatura de 23-25°C. Se verifican los criterios adecuados de idoneidad del sistema para confirmar la validez de la corrida analítica.</p>
<b>Consistencia a Farmacopeas</b>	Ph. Eur. Capítulo 2.2.3 Determinación Potenciométrica del pH USP <791> pH

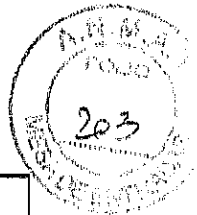
**Tabla 27 Concentración de Proteínas**

<b>Descripción de la Valoración</b>	<p><b>Prueba en Tubo de Ensayo llevada a cabo por Sandoz, para liberación del granel concentrado y por Novartis, para estabilidad del granel concentrado:</b></p> <p>Los estándares de referencia BSA se diluyen en agua para dar cuatro concentraciones para la curva estándar: 20, 15, 10, y 5 <math>\mu\text{g/ml}</math>. Todas las muestras del granel concentrado de la proteína recombinante de fusión fHbp se colocan a temperatura ambiente, se diluyen en agua para ajustar al rango de concentración de la curva estándar. Además, una muestra de prueba se enriquece con BSA 5 <math>\mu\text{g/ml}</math> para cada dilución probada; la muestra enriquecida sirve como un control de la adecuación del sistema (control de recuperación).</p> <p>Reactivos de Trabajo A (mezcla de carbonato de sodio, bicarbonato de sodio y tartrato de sodio), B (BCA 4% en agua), y C (pentahidrato de sulfato cúprico en agua 4%) se agregan a los tubos para todas las muestras (estándares, blancos, muestras de prueba y muestras de prueba más enriquecimiento), se agitan, e incuban a 60°C durante <math>60 \pm 2</math> minutos. Todas las muestras se preparan por duplicado. Luego, los tubos se enfrían a temperatura ambiente durante <math>20 \pm 2</math> minutos y se lee la absorbancia a 562 nm luego de llevar a cabo el auto cero con el blanco. Se prepara una curva estándar lineal, se traza la lectura de absorbancia promedio para cada estándar BSA contra su concentración correspondiente, en <math>\mu\text{g/ml}</math>. La concentración de proteínas se determina por calibración externa a partir de la curva estándar de BSA. Se verifican los criterios adecuados de idoneidad del sistema para confirmar la validez de la corrida analítica.</p> <p><b>Valoración de Placas de Microtitulación llevada a cabo por</b></p>
-------------------------------------	--

Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeroncio  
Director Técnico  
MN 14840

Novartis Argentina S.A.  
Farm. Sergio Imirtzian  
Gte. de Asuntos Regulatorios  
Codirector Técnico - M.N. 11521  
Apoderado





	<p><b>Sandoz (SOP interno), para controles durante el procesos:</b></p> <p>Se diluyen estándares de referencia de BSA en agua para dar dos concentraciones a 30 y 40 µg/ml. Los estándares de referencia BSA para la curva estándar se preparan a partir de estas dos soluciones, que se diluyen a 20, 15, 10, y 5 µg/ml. Todas las muestras de la proteína recombinante de fusión fHbp se diluyen en agua para ajustarse al rango de concentración de la curva estándar. Cada dilución estándar BSA y el blanco se agrega por duplicado a los pocillos. Cada muestra diluida se agrega por triplicado los pocillos adecuados.</p> <p>Reactivos de Trabajo A (mezcla de carbonato de sodio, bicarbonato de sodio y tartrato de sodio), B (BCA 4% en agua), y C (pentahidrato de sulfato cúprico en agua 4%) se agregan a cada pocillo (estándares, blancos, y muestra de prueba), se mezclan, e incuban a 37°C durante 2 horas. Luego, la placa se enfría a temperatura ambiente durante 20 minutos y se lee la absorbancia a 562 nm luego de llevar a cabo el auto cero con el blanco. Se prepara una curva estándar lineal, se traza la lectura de absorbancia promedio para cada estándar BSA contra su concentración correspondiente, en µg/ml. La concentración de proteínas se determina por calibración externa a partir de la curva estándar de BSA. Se verifican los criterios adecuados de idoneidad del sistema para confirmar la validez de la corrida analítica.</p>
<b>Consistencia a Farmacopeas</b>	No aplicable



**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840




**Novartis Argentina S.A.**  
 Farni: Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado




**Tabla 28 RP-HPLC**

Muestras de Prueba	Controles durante el proceso
<b>Descripción de la Valoración</b>	<p>Para generar la curva de calibración, se preparan siete concentraciones del estándar de referencia de proteína recombinante de fusión fHbp en tampón de dilución (Tris/HCl 50 mM y Tween 80 0,01%). Se preparan muestras de adecuación del sistema (SST) para evaluar el desempeño de la separación del sistema cromatográfico. La fase móvil (mezcla de acetonitrilo y agua con ácido trifluoroacético) o el tampón de dilución sirven como el blanco, o control negativo. Se diluyen muestras de prueba con tampón de dilución de modo tal que la señal de detección esté dentro del rango de calibración (normalmente en el rango de 100-200 µg/ml).</p> <p>Para asegurar la saturación de la columna antes del primer análisis, se inyectan muestras de estándar de referencia de equilibración en múltiples oportunidades, en una concentración de aproximadamente 0,100 mg/ml, al comienzo de la secuencia; cada secuencia de inyección incluye una prueba de adecuación del sistema para verificar la sensibilidad del sistema de detección y múltiples inyecciones de una muestra de adecuación del sistema antes y después de las primeras muestras de calibración, y en intervalos variables durante la secuencia. Las muestras de calibración se inyectan por duplicado, con el fin de aumentar la concentración, para obtener la curva de calibración. El blanco se inyecta entre grupos de muestra de típicamente 10-15 muestras para evitar la contaminación. Las muestras de prueba se inyectan una vez. La columna se opera en las condiciones validadas, con detección de absorbancia de UV a 214 nm. La integración pico se lleva a cabo con la ayuda del sistema de evaluación de datos Chromeleon (o equivalente). El contenido y la pureza se determinan a partir de los cromatogramas y la curva de calibración. Se verifican los criterios adecuados de idoneidad del sistema para confirmar la validez de la corrida analítica.</p>
<b>Consistencia a Farmacopeas</b>	No applicable

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

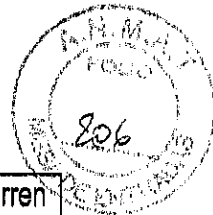
  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado




**Tabla 29 SDS-PAGE**

<b>Descripción de la Valoración</b>	<p><b>Valoración de Sandoz, para controles durante el proceso y liberación de granel concentrado:</b></p> <p><u>Determinación de Pureza</u></p> <p>El estándar de referencia proteína recombinante de fusión fHbp se diluye apropiadamente, se calienta, y agrega a los pocillos adecuados en dos concentraciones diferentes; las concentraciones superiores e inferiores sirven como los estándares de identidad y valor de referencia, respectivamente. Se diluyen muestras de prueba para ajustarse al rango de concentración especificado de proteínas totales por pocillo; luego, las muestras se calientan y se aplican, por duplicado, a los pocillos con gel. Se incluye un estándar de peso molecular sobre cada gel (en cada operación de valoración) y el tampón de muestra diluido en agua y calentado sirve como el blanco y el control negativo. Las muestras por duplicado, junto con un marcador del peso molecular, estándares, y blancos, se someten a electroforesis.</p> <p>Para visualizar las bandas, el gen se tife con azul de coomassie en etanol y se destiñe por el uso de una mezcla de etanol y ácido acético. El gel se barre con un densitómetro. Para la proteína recombinante de fusión fHbp, existe una banda principal correspondiente al granel concentrado; para el control durante el proceso de carga de captura menos pura, dos bandas migran en forma comparable al estándar de proteína recombinante de fusión fHbp. La pureza se expresa como la suma de la cantidad relativa porcentual de la banda identificada como proteína recombinante de fusión fHbp, cuando se compara con la intensidad densitométrica global de la totalidad de la hilera. Se verifican los criterios adecuados de idoneidad del sistema para confirmar la validez de la corrida analítica.</p> <p><u>Determinación de Cantidad</u></p> <p>La cuantificación se lleva a cabo únicamente par a las muestras de caldo de cultivo. El estándar de referencia se diluye apropiadamente, se calienta y volúmenes iguales a cuatro cargas de proteína diferentes (0,5, 1,0, 1,5, y 2,0 µg) se aplican a los pocillos con gel adecuados. Se diluyen muestras de prueba en tampón de muestra y agente reductor para ajustarse en un rango de concentración especificado de proteínas totales por pocillo; luego, las muestras se calientan y se aplican, por duplicado, a los pocillos con gel. Las muestras por duplicado, junto con un marcador del peso molecular, estándares, y blancos, se cargan sobre el gel de</p>
---	---



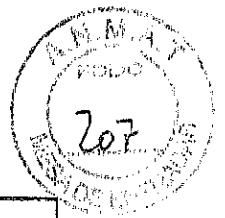


	<p>SDS gel y se someten a electroforesis. Los geles se tñen y barren de acuerdo con lo descripto con anterioridad para pureza. La cuantificación se lleva a cabo por la evaluación de la banda principal para la proteína recombinante de fusión fHbp. Los valores de cantidad de señales (densidad óptica x mm) de los estándares de referencia se utilizan para el análisis de regresión lineal. La cuantificación de la muestra de caldo de cultivo debe corregirse para el factor de dilución. Se verifican los criterios adecuados de idoneidad del sistema para confirmar la validez de la corrida analítica.</p>
	<p><b>Valoración de Novartis, para estabilidad del granel concentrado:</b></p> <p><u>Determinación de Pureza</u></p> <p>El estándar de referencia proteína recombinante de fusión fHbp se diluye con PBS o agua y se mezcla con un tampón de muestra y agente reductor, se calienta, y agrega a los pocillos adecuados. Se diluyen muestras de prueba en tampón de muestra y agente reductor para dar un rango de concentración especificado de proteínas totales por pocillo; las muestras se calientan y agregan, por duplicado, a los pocillos. Una mezcla calentada de PBS, tampón de muestra, y agente reductor sirve como el blanco, o control negativo. Se incluye un estándar de peso molecular en cada operación de valoración. Las muestras por duplicado, junto con un marcador del peso molecular, estándares, y blancos, se cargan sobre el gel de SDS y se someten a electroforesis.</p> <p>Para visualizar las bandas, el gel se tñe con azul de Coomassie en etanol y se destñe por el uso de una mezcla de etanol y ácido acético. El gel se barre con un densitómetro. Para la proteína recombinante de fusión fHbp, hay una banda principal. La pureza se expresa como la proporción porcentual de la banda identificada como proteína recombinante de fusión fHbp cuando se compara con la intensidad densitométrica total de la hilera. Se verifican los criterios adecuados de idoneidad del sistema para confirmar la validez de la corrida analítica.</p>
<p><b>Consistencia a Farmacopeas</b></p>	<p>No aplicable</p>

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeromic  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gle. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado



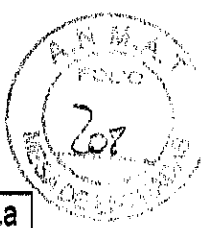


<p><b>Descripción de la Valoración</b></p>	<p><b>Valoración de Sandoz, para liberación del granel concentrado:</b></p> <p>Para la separación cromatográfica, se preparan cuatro soluciones estándares y referencias. Una mezcla de azul dextrano y azida de sodio (NaN<sub>3</sub>) se utiliza para la prueba del rango de integración y eficiencia de separación. Para la calibración del tiempo de retención y el peso molecular, se utiliza una mezcla que consiste en proteínas estándares con PM múltiples (por ej., proteínas de tiroglobulina, gamma globulina, ovoalbúmina, y mioglobina). El estándar de referencia proteína recombinante de fusión fHbp se prepara en dos concentraciones; la mayor concentración sirve como el estándar de referencia y la menor se utiliza para la sensibilidad del sistema. La fase móvil (mezcla de fosfato de dihidrógeno de potasio y sulfato de sodio) sirve como el blanco, o control negativo. Se diluyen muestras de prueba en la fase móvil de modo tal que el detector de señal esté dentro del rango del sistema.</p> <p>La columna SEC se equilibra con fase móvil antes del uso. Cada secuencia de inyección incluye una inyección simple mínima del estándar de referencia proteína recombinante de fusión fHbp (concentración elevada) antes y después de la inyección de muestra de prueba, el estándar de referencia proteína recombinante de fusión fHbp (concentración baja) para sensibilidad del sistema, el estándar de PM, y la muestra de azul dextrano/azida de sodio, para la operación óptima del sistema. Una inyección simple se utiliza para cada muestra de IPC probada; una inyección doble se utiliza para cada muestra de granel concentrado probadas. La columna se opera a las condiciones validadas, con detección a una absorbancia de UV de 214 nm. La integración del pico se lleva a cabo en forma manual con la ayuda del sistema de evaluación de datos Chromeleon (o equivalente).</p> <p>El contenido de pureza/impurezas se determina por la evaluación del área pico porcentual (integración) del pico principal asignada a la proteína recombinante de fusión fHbp con respecto al total de todas las áreas pico asignadas a sustancias e impurezas relacionadas con el producto de la proteína recombinante de fusión fHbp y la proteína recombinante de fusión fHbp. Se ruega notar que los picos fuera de los intervalos</p>
--	--

Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jeroncic  
 Director Técnico  
 MN 14840

Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado



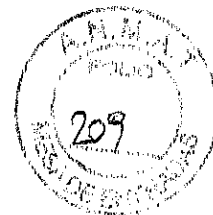


	<p>de azul dextrano y NaN<sub>3</sub> no se utilizan para integración. La identidad se confirma por la comparación de tiempos de retención de muestras con el estándar de referencia de MenB proteína recombinante de fusión fHbp. Se verifican los criterios adecuados de idoneidad del sistema para confirmar la validez de la corrida analítica.</p> <p><b>Valoración de Novartis, para estabilidad del granel concentrado:</b></p> <p>Para la separación cromatográfica, se preparan el mismo estándar y las soluciones de referencia que las usadas por Sandoz. Además, una solución de PABA (ácido para-aminobenzoico), se prepara en la fase móvil y se utiliza para la determinación de la eficiencia de la columna. Se diluyen muestras de prueba en la fase móvil de modo tal que la señal de detección esté dentro del rango del sistema.</p> <p>La columna de resina de gel de sílice se equilibra con la fase móvil antes del uso. Cada secuencia de inyección incluye una inyección simple mínima del estándar de referencia de proteína recombinante de fusión fHbp, el estándar de PM, la muestra de PABA, la muestra de azul dextrano/azida de sodio, y el blanco. Una inyección doble se utiliza para cada muestra de granel concentrado probada. La columna se opera a las condiciones validadas, con detección a una absorbancia de UV de 214 nm y 280 nm (para eficiencia de columna). Peak integration is performed by the Empower system (or equivalent).</p> <p>La pureza se determina por la evaluación del área pico porcentual del pico principal asignada a la proteína recombinante de fusión fHbp con respecto a la totalidad de las áreas de pico asignadas a sustancias e impurezas relacionadas con el producto de la proteína recombinante de fusión fHbp y la proteína recombinante de fusión fHbp. Se hace notar que los picos fuera de los intervalos de azul dextrano y NaN<sub>3</sub> no se utilizan. La identificación del pico principal se determina por la comparación de los tiempos de retención de la muestra con el estándar de referencia de MenB proteína recombinante de fusión fHbp. Se verifican los criterios adecuados de idoneidad del sistema para confirmar la validez de la corrida analítica.</p>
<b>Consistencia a Farmacopeas</b>	No aplicable

**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

**Novartis Argentina S.A.**  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





### 3.3 Justificación de las especificaciones

La justificación de las especificaciones para la elaboración del Granel Concentrado para la proteína recombinante de fusión fHbp se proporciona a continuación.

**Tabla 31 Justificación de Especificaciones para la Elaboración del Granel Concentrado de la proteína recombinante de fusión fHbp**

Prueba	Método de Análisis	Especificación	Justificación de Especificaciones
Pureza	SDS-PAGE	≥ 88%	SDS-PAGE monitorea la pureza del producto por la separación de proteínas y péptidos de acuerdo con la masa bajo condiciones de desnaturalización y reducción. La especificación corriente se ajusta con base en la experiencia clínica y de producción por el uso de los 11 lotes producidos en Sandoz en 2007-2010. Con base en los lotes analizados, los valores de pureza por SDS-PAGE oscilaron de 89-96% y, por lo tanto, la especificación final se ajustó a ≥ 88%.
Pureza	SE-HPLC	≥ 90%	SE-HPLC también monitorea la pureza del producto, pero proporciona información referente al estado nativo de la proteína y es capaz de detectar agregados no covalentes que podrían no observarse por el uso de SDS-PAGE. La especificación corriente de ≥90% da cuenta del perfil observado para la proteína recombinante de fusión fHbp, que incluye un pico principal con una cantidad muy baja de oligómeros o especies de bajo peso molecular, y se basa en la experiencia clínica y de producción por el uso de los lotes producidos en Sandoz en 2007-2010.
Contenido de Proteínas	Valoración de Proteínas Totales BCA	900-2700 µg/ml	La valoración BCA mide el Contenido Total de Proteínas en el granel purificado y los resultados obtenidos se utilizarán para formular el medicamento. La especificación menor de 900 µg/ml se ha ajustado para asegurar que la conductividad que surge de la formulación del Granel Concentrado de la proteína recombinante de fusión fHbp no afecte las interacciones antígeno-adyuvante durante la formulación del medicamento. Con base en los datos de estabilidad obtenidos a la fecha, no existe tendencia observable que se correlacione con concentraciones superiores de proteínas con la formación de oligómeros proteína recombinante de fusión fHbp. Por lo tanto, la especificación mayor se ha ajustado en 2700 µg/ml.
Identidad	Western Blot	Positiva	El Western blot es una prueba altamente sensible y específica que cuenta con la capacidad confirmar identidad y el peso

Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeroncio  
Director Técnico  
MN 14840

Novartis Argentina S.A.  
Farm. Sergio Imirtzian  
Gte. de Asuntos Regulatorios  
Codirector Técnico - M.N. 11521  
Apoderado

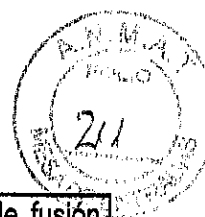


			<p>molecular de la proteína recombinante de fusión fHbp. La especificidad combinada conferida por reconocimiento de anticuerpos y peso molecular torna a esta valoración apropiada para confirmar la identidad de antígenos individuales en el principio activo y en el medicamento.</p>
HCP/Proteína	ELISA/ cálculo	≤ 100 ppm	<p>La cantidad de HCP residual se determina vía el uso de una inmunoválculo enzimática tipo sándwich comercial directa, con la cantidad de proteínas de <i>E. coli</i> extrapoladas de la curva estándar proporcionada con el kit. El límite de especificación de ≤ 100 ppm se basa en los resultados obtenidos de once lotes de proteína recombinante de fusión fHbp elaboradas entre 2007 y 2010.</p>
Osmolaridad	Osmometría/ punto de congelamiento	240-360 mOsm/kg	<p>Se ha establecido una especificación de 240-360 mOsm/kg con base en la experiencia clínica y de producción y por el uso de los lotes producidos en Sandoz de 2007-2010.</p>
Endotoxina/ Proteína	Prueba cromogénica cinética/cálculo	≤ 0,16 IU/μg	<p>El límite de especificación de ≤ 0,16 IU/μg de proteína se deriva del límite de Ph.Eur./USP de un total de 25 IU por dosis de vacuna, tomando en cuenta que una dosis de la vacuna Bexsero contiene 150 μg totales de proteína.</p>
Biocarga	Filtración de membrana	≤ 10CFU/100 ml	<p>Un nuevo límite de biocarga para el antígeno proteína recombinante de fusión fHbp se aplicará comenzando desde la campaña 2013 de elaboración del granel de proteína recombinante; el límite de ≤ 15 CFU/100 ml se reducirá a ≤ 10 CFU/100 ml.</p> <p>Esto cumple con los requerimientos del Manual de Calidad de Novartis y de la Nota CPMP para la Guía de Elaboración de la Forma de Dosificación Terminada (CPMP/QWP/486/95).</p>
pH	Potenciometría	6,5-7,5	<p>Se ha demostrado que la formulación corriente para el Granel Concentrado de la proteína recombinante de fusión fHbp confieren estabilidad adecuada cuando se almacena a -20°C ± 5°C o a -70°C ± 10°C durante hasta el final de la vida útil. La especificación del pH se diseña para demostrar que la operación final de la unidad de ultrafiltración/diafiltración intercambié exitosamente la proteína recombinante de fusión fHbp en un sistema de tampón donde se ha demostrado la estabilidad del Granel Concentrado.</p>
Conductividad	Potenciometría	15,000-17,300	<p>En forma similar a la justificación de la especificación del pH descrita con anterioridad, la especificación de conductividad se</p>

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jaronic  
 Director Técnico  
 MN 14840


  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Farm. Sergio Imirtzen  
 Gte. de Asuntos Regulatorios/  
 Director Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





		$\mu\text{S/cm}$	diseña para demostrar que la proteína recombinante de fusión fHbp se ha intercambiado por tampón en la formulación donde se ha demostrado la estabilidad del Granel Concentrado.
--	--	------------------	--

BCA: Ácido Bicinconínico; CFU: Unidades de Formación de Colonias; *E. coli*: *Escherichia coli*; ELISA: Valoración Inmunoabsorbente Vinculada con Enzimas; HCP: Proteína de las Células Huésped; IU: Unidades Internacionales;  $\mu\text{S}$ : Micro-Siemens; mOsm: Mil-Osmoles; Ph. Eur.: Farmacopea Europea; ppm: partes por millón; SE-HPLC: Cromatografía líquida de alto rendimiento con exclusión de tamaño; SDS-PAGE: Electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida; USP: Farmacopea de los Estados Unidos.

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado



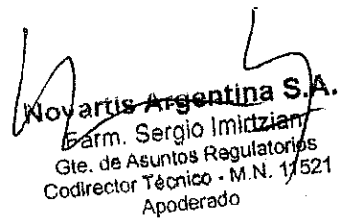


#### 4) VALIDACIÓN PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS

La síntesis para la validación de procedimientos analíticos para el granel final se describe en la siguiente sección.



Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeronic  
Director Técnico  
MN 14840



Novartis Argentina S.A.  
Farm. Sergio Imitzian  
Gte. de Asuntos Regulatorios  
Codirector Técnico - M.N. 11521  
Apoderado



**Tabla 32 Resultados de Validación para Biocarga (Valoración de Sandoz)**

Parámetro Probado	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Inhibición de microorganismos bacterianos y fúngicos de prueba para el Granel Concentrado	Los recuentos viables se determinan en presencia de seis organismos microbianos de referencia: <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> , y <i>Aspergillus niger</i> . Una cantidad conocida de cada microorganismo se enriquece en la muestra de prueba, luego se lamina por triplicado sobre un medio adecuado por el método de filtración de membrana. Luego, las placas se incuban durante un período de tiempo predefinido, y se recuentan las colonias.	La tasa de recuperación de microorganismos utilizada para la validación en comparación con el recuento microbiano de referencia debe ser $\pm 50\%$ (50-150%).	La recuperación porcentual osciló de 84-116% para los tres lotes de Granel Concentrado probados.
Inhibición de microorganismos bacterianos y fúngicos para pasos intermedios (soluciones de proceso)			Las recuperaciones porcentuales promedio oscilaron de 80-104%, 90-107%, 78-94%, and 72-112%, para UF/DF; y Cromatografía II, III, y I, respectivamente, para los tres lotes intermedios probados.

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jergencic  
 Director Técnico  
 MN 14640

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado

